

**ISOLASI DAN UJI TOKSISITAS
SENYAWA ALKALOID DARI KULIT BATANG TUMBUHAN
Polyalthia rumphii (B) Merr. (ANNONACEAE)**

Diski Rahman Hakim, Hilwan Yuda Teruna, Yuharmen

**Mahasiswa Program Studi S1 Kimia
Dosen Kimia Organik, Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau
Kampus Binawidya Pekanbaru, 28293, Indonesia
*disk88taekwon@gmail.com***

ABSTRACT

An alkaloid has been isolated from the stem bark of *Polyalthia rumphii* and the toxicity activity was determined using the Brine Shrimp Lethality Test method againsts larvae of *Artemia salina* Leach. The sample was extracted by maceration method using *n*-hexane and methanol respectively. The dried sample produced 4.19 g of *n*-hexane extract and 80.56 g of methanol extract. The methanol extract was extracted using acid-base method produced 0.04 g of crude alkaloids which then was subjected to column chromatography produced three fractions. Since the amount of fraction 1 & 3 was insufficient for further purification, only fraction 2 was purified using Sephadex LH-20 to give a compound coded as DK1. The structure of DK1 was determined using ¹H-NMR spectroscopy and indicated that DK1 had aromatic rings and a methoxy group. The toxicity assay showed that the extract of methanol and the fraction 2 were toxic with LC₅₀ 154.98 and 243.91 ppm, respectively.

Keywords: Alkaloid, Brine Shrimp Lethality Test, *Polyalthia rumphii*.

ABSTRAK

Senyawa alkaloid telah diisolasi dari kulit batang tumbuhan *Polyalthia rumphii* dan aktivitas toksisitasnya ditentukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* terhadap larva *Artemia salina* Leach. Sampel diisolasi dengan metode maserasi menggunakan pelarut *n*-heksana dan metanol. Sampel kering menghasilkan 4.19 g ekstrak *n*-heksana dan 80.56 g ekstrak metanol. Ekstrak metanol diekstraksi menggunakan metode asam-basa menghasilkan 0.04 g *crude* alkaloid kemudian dipisahkan dengan kromatografi kolom menghasilkan tiga fraksi. Oleh karena jumlah fraksi 1 & 3 tidak cukup untuk dilakukan pemurnian lebih lanjut, maka hanya fraksi 2 yang dimurnikan menggunakan Sephadex LH-20 dan menghasilkan senyawa DK1. Struktur senyawa DK1 ditentukan dengan menggunakan spektroskopi ¹H-NMR dan mengindikasikan bahwa senyawa ini memiliki cincin aromatik dan gugus metoksi. Uji toksisitas menunjukkan ekstrak metanol dan fraksi 2 ekstrak alkaloid bersifat toksik dengan nilai LC₅₀ 154.98 ppm dan 243.91 ppm.

Kata kunci: Alkaloid, *Brine Shrimp Lethality Test*, *Polyalthia rumphii*.

PENDAHULUAN

Polyalthia merupakan salah satu genus dari famili Annonaceae yang jumlah spesiesnya cukup besar. Genus ini banyak menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologis penting seperti antikanker dan antimikroba. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa senyawa dominan yang terkandung pada genus ini adalah alkaloid dan terpenoid. Senyawa lain yang juga ditemukan pada genus ini yaitu flavonoid, benzopironoid, asetogenin, dan sterol lakton. Hasil uji fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak *n*-heksana dan ekstrak metanol kulit batang tumbuhan *Polyalthia rumphii* diketahui mengandung senyawa golongan alkaloid dan steroid.

Pada tahun 2006, Teruna berhasil mengisolasi 3 senyawa alkaloid dari tumbuhan *P. rumphii*, yaitu *trans*-feruloiltiramin, *cis*-feruloiltiramin, dan *trans*-sinnamoiltiramin. Wang, dkk. (2012), berhasil mengisolasi beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu vanillin, syringaldehid, β -sitosterol, bis(2-etileptil)ftalat, dibutil ftalat, diisobutil phthalat, epiyangambin, diayangambin, dan N-transferuloyltiramin dari kulit batang tumbuhan *P. rumphii*. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker.

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan *P. rumphii* masih jarang diteliti, padahal jika ditinjau dari tumbuhan genus *Polyalthia* diketahui banyak digunakan oleh masyarakat secara tradisional sebagai obat. Berdasarkan pendekatan etnobotani masyarakat Talang Mamak yang ada di daerah Taman Nasional Bukit Tigapuluh

kabupaten Indragiri Hulu provinsi Riau Indonesia menggunakan spesies *Polyalthia rumphii* sebagai obat infeksi pada mata (Zuhud, 1999).

METODE PENELITIAN

Kulit batang tumbuhan *P. rumphii* diambil pada bulan November 2012 di daerah hutan lindung Taman Nasional Bukit Tigapuluh suku pedalaman Talang Mamak, Kabupaten Indragiri Hulu-Riau. Pengambilan sampel ini dilakukan di desa Siambul kecamatan Seberida pada ketinggian 80 m dari permukaan laut, 00° 46' 38,2" Lintang Selatan dan 102° 27' 31,6" Bujur Timur. Kulit batang *P. rumphii* terlebih dahulu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada temperatur ruang dan dijaga agar tidak terkena sinar matahari secara langsung hingga beratnya konstan. Setelah kering, kemudian dihaluskan sehingga diperoleh serbuk kering kulit batang *P. rumphii* dan siap untuk diekstraksi.

a. Ekstraksi dan isolasi senyawa alkaloid

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk kering kulit batang tumbuhan *P. rumphii* sebanyak 1400 g direndam di dalam bejana ekstraksi dengan pelarut *n*-heksana selama 3x24 jam pada suhu kamar, kemudian diultrasonikasi lebih kurang selama 30 menit dan disaring. Proses ini dilakukan 2 kali pengulangan, maserat dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh maserat total *n*-heksana. Perlakuan yang sama dilakukan pada residu kering tumbuhan *P. rumphii*

menggunakan pelarut metanol untuk mengekstrak senyawa alkaloid.

Senyawa alkaloid yang terkandung dalam ekstrak metanol kulit batang tumbuhan *P. rumphii* dipisahkan dengan menggunakan metode asam-basa. Sebanyak 80.56 gram ekstrak metanol diasamkan dengan penambahan asam sitrat 3% hingga pH menjadi 3-4. Penambahan larutan asam diulangi beberapa kali sampai larutan tersebut memberi hasil negatif terhadap reagen penguji alkaloid, larutan tersebut didiamkan selama 24 jam. Larutan disaring dengan kertas saring, filtrat yang didapat dibasakan dengan menambahkan ammonia 25% sambil diaduk hingga pH menjadi 8-9. Larutan diekstraksi dengan *n*-heksana untuk mengikat senyawa-senyawa non-alkaloid yang bersifat nonpolar, kemudian ekstraksi dilanjutkan dengan kloroform untuk mengikat senyawa-senyawa alkaloid yang bersifat semipolar, kloroformnya diuapkan hingga diperoleh ekstrak alkaloid.

b. Pemurnian senyawa alkaloid

Senyawa yang terdapat pada ekstrak alkaloid dipisahkan dengan kolom kromatografi menggunakan silika gel 70-230 *mesh* dan diameter kolom 2 cm. Pemisahan dilakukan dengan elusi secara bergradien menggunakan pelarut etilasetat dan metanol. Hasil pemisahan kromatografi kolom dilakukan uji KLT, pemisahan ini menghasilkan fraksi alkaloid dalam bentuk karamel kuning kecoklatan. Kemudian fraksi alkaloid ini dilanjutkan pemurnian dengan kromatografi eksklusi (Sephadex LH 20).

c. Uji kemurnian dan karakterisasi senyawa alkaloid

Senyawa hasil isolasi dilakukan analisis kemurnian dengan HPLC fase terbalik yang dilakukan di Universitas Riau, Pekanbaru. Elusidasi struktur senyawa DK1 dilakukan dengan spektrofotometer $^1\text{H-NMR}$ di Laboratorium School of Chemistry, University of Wollongong.

d. Uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Pengujian dilakukan terhadap ekstrak metanol dan fraksi 2 ekstrak alkaloid dengan konsentrasi 1000, 100 dan 10 ppm. Pembuatan larutan sampel uji dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat. Sebanyak 20 mg masing-masing sampel uji dilarutkan dalam 2 ml metanol maka diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 10000 ppm. Masing-masing larutan tersebut dipipet sebanyak 0,5 ml dan ditambahkan 4,5 ml metanol hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm setelah penambahan air laut. Larutan induk diatas dipipet lagi sebanyak 0,5 ml dan ditambahkan 5 ml metanol hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm setelah penambahan air laut dan untuk konsentrasi 10 ppm dibuat dari sampel uji 100 ppm dengan cara yang sama. Masing-masing larutan dipipet sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam vial uji dengan pengulangan masing-masing 3 kali.

Pelarut dari masing-masing vial uji dibiarkan menguap dan senyawa uji dilarutkan kembali dengan 50 μL DMSO, selanjutnya ditambahkan air laut

hingga hampir mencapai batas kalibrasi. Larva *Artemia salina* dimasukkan pada masing-masing vial sebanyak 10 ekor. Air laut ditambahkan lagi beberapa tetes hingga batas kalibrasi, kematian larva *A. salina* diamati setelah 24 jam. LC₅₀ dihitung dengan metode kurva menggunakan tabel probit (Meyer dkk., 1982 dan Harefa, 1997). Untuk kontrol dilakukan dengan cara yang sama namun dilakukan tanpa memasukkan sampel ke dalam vial uji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Ekstraksi dan isolasi

Hasil uji fitokimia kulit batang *Polyalthia rumphii* memperlihatkan adanya kandungan metabolit sekunder golongan alkaloid dan steroid. Serbuk kering kulit batang *P. rumphii* sebanyak 1400 g dimaserasi secara bertingkat dengan menggunakan pelarut *n*-heksana dan metanol menghasilkan ekstrak *n*-heksana 4,19 g dan ekstrak metanol 80,56 g, kedua ekstrak tersebut berbentuk seperti karamel berwarna coklat kehitaman dengan bau khas.

b. Pemurnian alkaloid

Ekstraksi senyawa alkaloid dari 80,56 g ekstrak metanol menghasilkan 2 g ekstrak alkaloid. Ekstrak alkaloid dipisahkan dengan kromatografi kolom menghasilkan 74 vial (3 fraksi). Data hasil pemisahan tersebut dapat dilihat pada Tabel 1. Fraksi 2 (vial 5-25) berisi padatan alkaloid berwarna kuning kecoklatan digabungkan menjadi satu (0,04 g) karena memiliki R_f yang sama.

Tabel 1 : Pemisahan ekstrak alkaloid

Fraksi	Berat (g)	Kandungan alkaloid
1	0,05	Negatif
2	0,04	Positif
3	0,95	Negatif

Kemudian fraksi 2 dari ekstrak alkaloid (0,04 g) dimurnikan melalui kromatografi eksklusi (Sephadex LH-20). Hasil pemisahan diperoleh senyawa DK1 dalam bentuk karamel kuning kecoklatan. Berdasarkan hasil analisis HPLC diketahui bahwa senyawa ini tidak murni yang ditunjukkan dengan banyaknya puncak yang terdapat pada kromatogram HPLC.

c. Hasil pemeriksaan spektroskopi ¹H-NMR

Karakterisasi senyawa DK1 dilakukan dengan menggunakan spektroskopi NMR yang meliputi spektroskopi ¹H-NMR dan COSY. Spektrum ¹H-NMR senyawa DK1 memperlihatkan pegeseran kimia proton, spektrum COSY menunjukkan korelasi antara proton-proton visinal. Spektrum ¹H-NMR senyawa DK1 dalam pelarut CDCl₃ dengan frekuensi 500 MHz memperlihatkan sinyal-sinyal yang tumpang tindih pada pegeseran 0,8-1,5 ppm yang mengindikasikan adanya proton yang berasal dari gugus alifatik, pada pegeseran kimia 3,8 ppm mengindikasikan adanya proton dari gugus metoksi dengan puncak *singlet*, pada pegeseran kimia 7,0-8,5 ppm mengindikasikan adanya proton yang berasal dari C-H aromatis.

d. Uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas dilakukan dengan metode BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina* terhadap ekstrak metanol dan fraksi 2 ekstrak alkaloid. Hasil uji aktivitas toksisitas tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 : Hasil uji toksisitas

No	Sampel	LC ₅₀ (ppm)
1	Ekstrak methanol	154,98
2	fraksi 2 ekstrak alkaloid	243,91

data hasil uji aktivitas tersebut diketahui bahwa ekstrak metanol dan fraksi 2 ekstrak alkaloid memiliki sifat toksik yang baik karena memiliki harga LC₅₀ yang lebih kecil dari standar ekstrak (kecil atau sama dengan 1000 ppm) (Meyer dkk, 1982).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa kulit batang tumbuhan *Polyalthia rumphii* mengandung senyawa metabolit sekunder golongan steroid dan alkaloid. Senyawa alkaloid DK1 yang diperoleh dari fraksi 2 ekstrak alkaloid tidak murni. Berdasarkan hasil analisis ¹H-NMR diketahui bahwa senyawa DK1 memiliki gugus metoksi dan C-H aromatis. Uji aktivitas toksisitas dilakukan terhadap ekstrak metanol dan fraksi 2 ekstrak alkaloid. Hasil uji aktivitas tersebut menunjukkan bahwa keduanya memiliki sifat toksik yang baik dengan nilai LC₅₀ 154,98 ppm dan 243,91 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis sangat berterima kasih kepada pihak-pihak yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan bimbingan dan arahan serta membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Harefa, F. 1997. *Pembudidayaan Artemia salina untuk pakan udang dan ikan*. Swadaya, Jakarta.
- Meyer, B. N. R., Ferrigni, J. E., Putnam, L. B., Jacosen, D. E., Nicholas., dan McLaughin, J. L. 1982. Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*. 45: 31-34.
- Teruna, H. Y. 2006. *Phytochemical study of Annonaceae plant from Sumatera, Indonesia*. Centre for phytochemistry and pharmacology. Southern Cross University, Lismore, Australia.
- Wang, T., Yuan, Y., Wang, J., Han, C., & Chen, G. 2012. Anticancer activities of constituents from the stem of *Polyalthia rumphii*. *Jurnal Pharmaceutical Sciences*. 25: 352-356.
- Zuhud, E. A. M., Medi, L., Rahayu, M., Sedayu, A., Teruna, H. Y., dan Effendi, J. 1999. *Ekspedisi biota medika di Taman Nasional Bukit Tigapuluh dan cagar biosfer Bukit Duabelas provinsi Riau dan*

Jambi, Laporan (Expedition of medicinal plants of Tigapuluh Hill National Park and Twelve Hill National reserve in Riau and Jambi province: A report). Departemen

Kesehatan RI dengan Institute Pertanian Bogor, Universitas Indonesia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor, pp 56-68.